

(19)



Europäisches Patentamt

European Patent Office

Office européen des brevets

(11)



EP 1 153 608 A1

(12)

## EUROPÄISCHE PATENTANMELDUNG

(43) Veröffentlichungstag:  
14.11.2001 Patentblatt 2001/46

(51) Int Cl.7: A61K 38/36, A61K 38/37,  
A61K 38/38

(21) Anmeldenummer: 01109549.4

(22) Anmelddatag: 18.04.2001

(84) Benannte Vertragsstaaten:  
AT BE CH CY DE DK ES FI FR GB GR IE IT LI LU  
MC NL PT SE TR

Benannte Erstreckungsstaaten:  
AL LT LV MK RO SI

(30) Priorität: 08.05.2000 DE 10022092

(71) Anmelder: Aventis Behring GmbH  
35002 Marburg (DE)

(72) Erfinder:  
• Römisch, Jürgen, Dr.  
35041 Marburg (DE)  
• Stauss, Harald  
35232 Dautphetal (DE)  
• Stöhr, Hans-Arnold  
35083 Wetter (DE)

### (54) Stabilisiertes Protein-Präparat und Verfahren zu seiner Herstellung

(57) Es wird ein stabilisiertes Protein-Präparat beschrieben, das kein Antithrombin III enthält und gegen einen Wirkungsverlust bei der Pasteurisierung durch den Zusatz von Stabilisatoren geschützt ist, welche aus einem oder mehreren Sacchariden in Mischung mit mehr als 0,5 mol/l einer oder mehrerer Aminosäuren aus der Gruppe Arginin, Lysin, Histidin, Phenylalanin, Tryptophan, Tyrosin, Asparaginsäure und ihren Salzen oder Glutaminsäure und ihren Salzen bestehen, wobei

jeder dieser Aminosäuren auch noch Glycin und/oder Glutamin zugesetzt sein kann. Es wird außerdem ein Verfahren zur Virusaktivierung oder Virusabreicherung eines derartigen Protein-Präparates beschrieben, das die vorstehend genannten Stabilisatoren enthält und einer Pasteurisierung oder einer Virusabreicherung durch Filtration, Zentrifugation oder einer Behandlung mit Detergenzien oder bakteriziden oder viriziden Mitteln unterworfen wird.

**Beschreibung**

[0001] Gegenstand der Erfindung ist ein stabilisiertes Protein-Präparat, das therapeutisch aktive Proteine enthält und durch den Zusatz von Stabilisatoren gegen einen Wirkungsverlust oder die Denaturierung der Proteine bei der Pasteurisierung geschützt ist. Außerdem sind Verfahren zur Virusinaktivierung und Virusabreicherung der erfindungsgemäß stabilisierten Protein-Präparate beschrieben. Hierzu gehören u.a. die Nanofiltration und die Behandlung mit bakteriziden oder viriziden Substanzen oder Detergenzien.

[0002] Es ist bekannt, dass bestimmte Proteine in Form von Konzentraten zur Prophylaxe und Therapie unterschiedlicher Krankheiten eingesetzt werden, die durch angeborene oder erworbene Mangelzustände an diesen Proteinen hervorgerufen werden. Als Quelle der therapeutisch angewendeten Proteine dienen dabei besonders das Blutplasma oder Organextrakte. Neuerdings werden auch entsprechende rekombinant oder transgen hergestellte Proteine therapeutisch angewendet.

[0003] Jede der genannten Quellen birgt allerdings das potentielle Risiko einer Einschleppung von infektiösen Organismen wie Bakterien, Viren und Prionen. Deshalb sind auch schon zahlreiche Verfahren entwickelt worden, mit denen einer solchen potentiellen Verunreinigung von Protein-Präparaten entgegengewirkt werden kann. Mit der Pasteurisierung, insbesondere der Erhitzung von Proteinlösungen auf 60° C für einen Zeitraum von 10 Stunden, steht bereits ein sehr effektives Verfahren zur Inaktivierung von infektiösen Viren und anderen Krankheitserregern zur Verfügung, das den Sicherheitsstandard hinsichtlich der Übertragung von Infektionen durch Protein-Präparate entscheidend verbessert hat. Zusätzlich wurden weitere Verfahren entwickelt wie die Behandlung der Präparate mit Detergenzien oder bakteriziden oder viriziden Mitteln. Außerdem kann auch eine mechanische Abtrennung von Organismen, bspw. durch eine geeignete Filtration wie die so genannte "Nanofiltration" erfolgen.

[0004] Es reicht jedoch nicht aus, Verfahren zur Verfügung zu stellen, die eine zuverlässige Inaktivierung oder Abreicherung von Viren und anderen pathogenen Keimen in Protein-Präparaten sicherstellen. Gleichzeitig muss auch dafür Sorge getragen werden, dass die therapeutische Wirksamkeit des Proteinpräparats nicht durch Maßnahmen zur Virusinaktivierung oder Virusabreicherung beeinträchtigt wird. Deshalb muss den meist auf konformationelle Veränderungen der Proteine zurückzuführenden Veränderungen durch die Zugabe von Stabilisatoren zu der zu erhitzenden Proteinlösung entgegengewirkt werden. Obwohl Stabilisatoren als Zusatzstoffe zu Protein-Präparaten bereits allgemein Verwendung finden, muss deren qualitative und quantitative Zusammenstellung auf bestimmte Proteine oder Proteingruppen ähnlicher physikochemischer Eigenschaften abgestimmt werden. Dabei finden häufig Kohlenhydrate, nicht selten in Kombination mit bestimmten Aminosäuren, Anwendung.

- [0005] So ist in der DE-A-29 16 711 ein Verfahren zur Stabilisierung von Blutgerinnungsfaktoren beschrieben, bei dem der Proteinlösung eine Aminosäure und ein Mono- oder Oligosaccharid oder ein Zuckeralkohol zugesetzt werden. Als Aminosäuren werden dabei Glycin,  $\alpha$ - oder  $\beta$ -Alanin, Hydroxy-Prolin, Prolin, Glutamin und die  $\alpha$ ,  $\beta$ - oder  $\gamma$ -Aminobuttersäure eingesetzt.
- [0006] Außerdem ist aus den US-Patentschriften 4 440 679 und 4 623 717 bekannt, dass hitzeempfindliche, therapeutisch aktive Proteine wie der Faktor VIII, Fibronectin, Antithrombin III,  $\alpha$ -1-Antitrypsin, Plasminogen, Albumin und Prekallikrein ohne Wirkungsverlust pasteurisiert werden können, wenn ihnen entweder eine konzentrierte wässrige Lösung eines Zuckers oder eines reduzierten Zuckers zugesetzt wird, die auch noch 0,1 bis 0,5 Mol/l einer Aminosäure, insbesondere Arginin, Lysin und/oder Glycin enthalten kann.
- [0007] Schließlich ist auch in der deutschen Patentanmeldung 198 564 43.0 ein stabilisiertes Antithrombin-III-Präparat beschrieben, das gegen einen Wirkungsverlust bei der Pasteurisierung durch einen Zusatz von Stabilisatoren geschützt ist, welche aus einem oder mehreren Sacchariden in Mischung mit mehr als 0,5 mol/l einer oder mehrerer Aminosäuren aus der Gruppe Arginin, Lysin, Histidin, Phenylalanin, Tryptophan, Tyrosin, Asparaginsäure und ihren Salzen oder Glutaminsäure und ihren Salzen bestehen, wobei jeder dieser Aminosäuren auch noch Glycin und/oder Glutamin zugesetzt sein kann.
- [0008] Es wurde nun gefunden, dass sich nach dem in der deutschen Patentanmeldung 198 564 43.0 beschriebenen Verfahren auch noch andere therapeutisch wertvolle Proteine, die kein Antithrombin III enthalten, so stabilisieren lassen, dass sie eine Pasteurisierung oder ein anderes Verfahren zur Virusinaktivierung oder Virusabreicherung nahezu unbeschadet überstehen. Die nach diesem Verfahren zu stabilisierenden Proteine können sowohl aus Plasma oder Organextrakten hergestellt sein. Insbesondere die Blutgerinnungsfaktoren II, V, VII und VIIa (aktivierte Form von F VII), VIII, IX, X, XII und XIII sowie deren Kombinationspräparate wie das sogenannte "Prothrombinkomplex-Konzentrat", bestehend aus FII, FVII, FIX und FX, und das aktivierte Prothrombinkomplex-Konzentrat sowie FIIa (Thrombin) können so mit sehr gutem Erfolg stabilisiert werden. Der gleiche Effekt wurde auch bei dem von Willebrand-Faktor (vWF) oder FVIII/vWF, bei Albumin, bei Immunglobulinen, Proteaseinhibitoren, wie dem C1-Inhibitor, dem  $\alpha$ -2-Antiplasmin und dem  $\alpha$ -1-Antitrypsin, dem Protein C und dem aktivierte Protein C, Protein S, Protein Z, dem Inhibitor, der durch Gewebethromboplastin initiierten Gerinnung (TFPI = tissue factor pathway inhibitor), sowie bei Fibrinogen, Fibronectin und Plasminogen beobachtet. Dabei lassen sich erfindungsgemäß stabilisierte Protein-Präparate sowohl aus entsprechenden rekombinanten oder transgenen Proteinen herstellen.

[0009] Gegenstand der Erfindung ist deshalb ein stabilisiertes Proteinpräparat, das kein Antithrombin III enthält und gegen einen Wirkungsverlust bei der Pasteurisierung durch den Zusatz von Stabilisatoren geschützt ist, welche aus einem oder mehreren Sacchariden in Mischung mit mehr als 0,5 mol/l einer oder mehrerer Aminosäuren aus der Gruppe Arginin, Lysin, Histidin, Phenylalanin, Tryptophan, Tyrosin, Asparaginsäure und ihren Salzen oder Glutaminsäure und ihren Salzen bestehen, wobei jeder dieser Aminosäuren auch noch Glycin und/oder Glutamin zugesetzt sein kann.

[0010] Das erfindungsgemäß stabilisierte Protein-Präparat enthält als Saccharid ein Monosaccharid, ein Disaccharid oder ein Oligosaccharid in einer Menge von wenigstens 0,5 g/ml, vorzugsweise von wenigstens 1,5 g/ml. Es weist einen pH-Wert von 3,0 bis 9,5, vorzugsweise von 4,0 bis 8,5 auf. Es enthält außerdem eine oder mehrere der oben genannten Aminosäuren in einer Konzentration von mehr als 0,5 mol/l, vorzugsweise von mehr als 0,8 mol/l. Besonders bevorzugt werden Mischungen aus einem Saccharid in einer Konzentration von mehr als 1,5 g/ml mit einer oder mehreren der vorstehend genannten Aminosäuren in Konzentrationen von über 0,5 mol/l, vorzugsweise von über 0,8 mol/l. Diesen Mischungen kann auch noch Glycin und/oder Glutamin in einer Menge von mehr als 0,5 mol/l, vorzugsweise mehr als 0,8 mol/l, zugesetzt sein. Außerdem ist der Zusatz von löslichen Kalziumsalzen, bspw. in Form von Kalziumchlorid, in Konzentrationen von mehr als 0,5 mmol/l, vorzugsweise mehr als 1 mmol/l, vorteilhaft.

[0011] Die so stabilisierte Lösung wird für 5 bis 50 Stunden, vorzugsweise 8 bis 20 Stunden, bei 40 bis 95°C erhitzt, wobei Temperaturen zwischen 50 bis 70°C, insbesondere zwischen 55 bis 65°C, besonders bevorzugt sind. Die erfindungsgemäß stabilisierten Proteinlösungen eignen sich aber auch zur Virusabreicherung mittels Filtration, bevorzugt der Nanofiltration, oder mittels der Zentrifugation oder zur Behandlung mit bakteriziden oder viriziden Mitteln oder mit Detergenzien. Das zuletzt genannte Verfahren ist als "Solvent-Detergent-Behandlung" bekannt.

[0012] Die Erfindung wird an folgendem Beispiel erläutert:

#### Beispiel

[0013] Eine wässrige Proteinlösung, die den Faktor VIII in angereicherter Form enthielt, wurde mit Saccharose bis zu einer Konzentration von 1,75 g/ml versetzt. Diese Lösung wurde in mehrere Ansätze aufgeteilt, denen Glycin oder Glutamat und Arginin beigemischt wurden, um für jede der Aminosäuren Konzentrationen von 0,8 bis 2 mol/l zu erreichen. Die so stabilisierten Lösungen wurden für 10 Stunden bei 60°C im Wasserbad erhitzt. Jedem dieser Ansätze wurde vor und nach dem Erhitzen eine Probe zur Analyse entnommen. Die Faktor VIII-Aktivitäten wurde jeweils nach zwei bekannten

Testmethoden untersucht, nämlich dem sogenannten "Clotting Test" und einem chromogenen Test (Coamatic® FVIII). Für jeden Ansatz wurde die Protein-Aktivität berechnet und mit der Aktivität vor der Pasteurisierung verglichen.

[0014] Dabei wurde im ersten Ansatz eine Stabilisierung gemäß dem in der DE-A-29 16 711 offenbarten Stand der Technik durchgeführt, während im zweiten Ansatz die erfindungsgemäß Stabilisierung eingesetzt wurde. Die Ergebnisse sind in der nachfolgenden Tabelle dargestellt:

Ansatz	Ausbeute (%)		
1. Saccharose	1.75 g/ml	82	
Glycin	1.8 mol/l		
CaCl <sub>2</sub>	0,05 mol/l		
2. Saccharose	1.75 g/ml	97	
Na-Glutamat	1.5 mol/l		
Arginin	1.5 mol/l		

[0015] Damit wird gezeigt, dass die in der DE-A-29 16 711 beschriebene Stabilisierung mit einem Zucker und einer Aminosäure wie Glycin zwar eine gewisse Stabilisierung des Faktor VIII bewirkt, jedoch zeigt der Ansatz 2, dass durch die erfindungsgemäß Zugabe von Arginin/Glutamat eine erheblich höhere Stabilisierung erreicht wird, die nahezu die gesamte biologische Aktivität des eingesetzten Faktor VIII unbeschadet lässt.

#### Patentansprüche

1. Stabilisiertes Protein-Präparat, dadurch gekennzeichnet, dass es kein Antithrombin III enthält und gegen einen Wirkungsverlust bei der Pasteurisierung durch den Zusatz von Stabilisatoren geschützt ist, welche aus einem oder mehreren Sacchariden in Mischung mit mehr als 0,5 mol/l einer oder mehreren Aminosäuren aus der Gruppe Arginin, Lysin, Histidin, Phenylalanin, Tryptophan, Tyrosin, Asparaginsäure und ihren Salzen oder Glutaminsäure und ihren Salzen bestehen, wobei jeder dieser Aminosäuren auch noch Glycin und/oder Glutamin zugesetzt sein kann.
2. Stabilisiertes Protein-Präparat nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass es als Protein ein oder mehrere Blutgerinnungsfaktoren ausgewählt aus der Gruppe umfassend FII, FV, FVII und FVIIa, FVIII, FIX, FX, FXII sowie deren Kombinationspräparate, den von Willebrand-Faktor (vWF) oder den FVIII/vWF oder ein oder mehrere Proteine ausgewählt aus der Gruppe umfassend Albumine, Immunglobuline, Proteaseinhibitoren, α-2-Antiplasmin, α-1-Antitrypsin, Protein C, aktiviertes Protein C, Protein S, Protein Z, TFPI, Fibrinogen, Fibronek-

tin und Plasminogen enthält.

3. Stabilisiertes Protein-Präparat nach den Ansprüchen 1 und 2, dadurch gekennzeichnet, dass es als Saccharid ein Monosaccharid, ein Disaccharid oder ein Oligosaccharid in einer Menge von wenigstens 0,5 g/ml, vorzugsweise von wenigstens 1,0 g/ml, enthält. 5
4. Stabilisiertes Protein-Präparat nach den Ansprüchen 1 bis 3, dadurch gekennzeichnet, dass es das Saccharid in einer Menge von mehr als 1,5 g/ml enthält. 10
5. Stabilisiertes Protein-Präparat nach den Ansprüchen 1 bis 4, dadurch gekennzeichnet, dass es eine oder mehrere Aminosäuren in einer Menge von mehr als 0,5 mol/l, vorzugsweise in einer Menge von mehr als 0,8 mol/l, enthält. 15
6. Stabilisiertes Protein-Präparat nach den Ansprüchen 1 bis 5, dadurch gekennzeichnet, dass es zusätzlich auch noch ein lösliches Kalziumsalz in einer Menge von wenigstens 0,5mmol/l, vorzugsweise in einer Menge von wenigstens 1,0 mmol/l enthält. 20
7. Verfahren zur Virusinaktivierung oder Virusabreicherung eines Protein-Präparates, dadurch gekennzeichnet, dass man ein stabilisiertes Protein-Präparat gemäß den Ansprüchen 1 bis 6 30
  - einer Hitzebehandlung bei 40 bis 95°C über einen Zeitraum von 5 bis 50 Stunden oder 35
  - einer Virusabreicherung mittels Filtration oder
  - einer Virusabreicherung mittels Zentrifugation oder 40
  - einer Behandlung mit Detergenzien oder bakteriziden oder viriziden Mitteln unterwirft.



Europäisches  
Patentamt

## EUROPÄISCHER RECHERCHENBERICHT

Nummer der Anmeldung  
EP 01 10 9549

## EINSCHLÄGIGE DOKUMENTE

Kategorie	Kennzeichnung des Dokuments mit Angabe, soweit erforderlich, der maßgeblichen Teile	Betrifft Anspruch	KLASSIFIKATION DER ANMELDUNG (Int.Cl.7)
X	EP 0 230 956 A (BEHRINGWERKE AG) 5. August 1987 (1987-08-05) *siehe Zusammenfassung, Seite 3, Zeilen 9-11, Beispiel 4, Ansprüche 8-10*	1-7	A61K38/36 A61K38/37 A61K38/38
X	EP 0 249 167 A (BEHRINGWERKE AG) 16. Dezember 1987 (1987-12-16) *cf. Seite 1, Absatz 1, Zeilen 23-53, Seite 5, Zeilen 10-15*	1-7	
X	EP 0 297 294 A (BEHRINGWERKE AG) 4. Januar 1989 (1989-01-04) *cf. Zusammenfassung, Seite 4, Zeilen 9-13, Seite 5, Beispiel 3*	1-7	
X	US 4 623 717 A (FERNANDES PETER M ET AL) 18. November 1986 (1986-11-18) *siehe Zusammenfassung, Spalte 3, letzter Absatz mit Spalte 4, Zeilen 1-12, Spalte 4, Zeile 66 mit Spalte 5, Zeilen 1-40, Spalte 6, Zeilen 29-65, Anspruch 1*	1-7	
Y	DE 37 18 889 A (BEHRINGWERKE AG) 22. Dezember 1988 (1988-12-22) *siehe Zusammenfassung, Spalte 1, Ansprüche 1-5, Spalte 4, Absatz 3, Spalte 5, Absatz 4, Spalte 7, Absatz 1*	1-7	RECHERCHIERTE SACHGEBiete (Int.Cl.7) A61K
Y	US 4 806 524 A (KAWAGUCHI TSUTOMU ET AL) 21. Februar 1989 (1989-02-21) *siehe Zusammenfassung, Spalte 1, Zeile 43 mit Spalte 2, Absatz 1, Beispiele 2-7 auf Spalte 4*	1-7	
Y	EP 0 383 234 A (BEHRINGWERKE AG) 22. August 1990 (1990-08-22) *siehe Zusammenfassung, Seite 6, Spalte 10, Anspruch 4*	1-7	
		-/-	
Der vorliegende Recherchenbericht wurde für alle Patentansprüche erstellt			
Recherchenort	Abschlußdatum der Recherche	Prüfer	
MÜNCHEN	21. September 2001	Stoltner, A	
KATEGORIE DER GENANNTEN DOKUMENTE			
X : von besonderer Bedeutung allein betrachtet	T : Erfindung zugrunde liegende Theorien oder Grundsätze		
Y : von besonderer Bedeutung in Verbindung mit einer anderen Veröffentlichung derselben Kategorie	E : älteres Patentdokument, das jedoch erst am oder nach dem Anmeldedatum veröffentlicht worden ist		
A : technologischer Hintergrund	D : in der Anmeldung angeführtes Dokument		
O : nichtschriftliche Offenbarung	L : aus anderen Gründen angeführtes Dokument		
P : Zwischenliteratur	& : Mitglied der gleichen Patentfamilie, übereinstimmendes Dokument		

Europäisches  
Patentamt

## EUROPÄISCHER RECHERCHENBERICHT

Nummer der Anmeldung  
EP 01 10 9549

EINSCHLÄGIGE DOKUMENTE									
Kategorie	Kennzeichnung des Dokuments mit Angabe, soweit erforderlich, der maßgeblichen Teile	Betrift Anspruch	KLASSIFIKATION DER ANMELDUNG (Int.Cl.7)						
Y	US 4 960 757 A (KUMPE GERHARDT ET AL) 2. Oktober 1990 (1990-10-02) *siehe Spalte 1, Zeilen 10-12, Ansprüche 1-8*	1-7							
RECHERCHIERTE SACHGEBIETE (Int.Cl.7)									
<p>Der vorliegende Recherchenbericht wurde für alle Patentansprüche erstellt</p> <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 33%;">Recherchenort</td> <td style="width: 33%;">Abschlußdatum der Recherche</td> <td style="width: 34%;">Prüfer</td> </tr> <tr> <td>MÜNCHEN</td> <td>21. September 2001</td> <td>Stoltner, A</td> </tr> </table> <p>KATEGORIE DER GENANNTEN DOKUMENTE</p> <p>X : vor besonderer Bedeutung allein betrachtet      Y : vor besonderer Bedeutung in Verbindung mit einer anderen Veröffentlichung derselben Kategorie      A : technologischer Hintergrund      O : nichtschriftliche Offenbarung      P : Zwischenliteratur</p> <p>T : der Erfindung zugrunde liegende Theorien oder Grundsätze      E : älteres Patentdokument, das jedoch erst am oder nach dem Anmeldedatum veröffentlicht worden ist      D : in der Anmeldung angeführtes Dokument      L : aus anderen Gründen angeführtes Dokument      B : Mitglied der gleichen Patentfamilie, übereinstimmendes Dokument</p>				Recherchenort	Abschlußdatum der Recherche	Prüfer	MÜNCHEN	21. September 2001	Stoltner, A
Recherchenort	Abschlußdatum der Recherche	Prüfer							
MÜNCHEN	21. September 2001	Stoltner, A							

**ANHANG ZUM EUROPÄISCHEN RECHERCHENBERICHT  
ÜBER DIE EUROPÄISCHE PATENTANMELDUNG NR.**

EP 01 10 9549

In diesem Anhang sind die Mitglieder der Patentfamilien der im obengenannten europäischen Recherchenbericht angeführten Patentdokumente angegeben.  
 Die Angaben über die Familienmitglieder entsprechen dem Stand der Datei des Europäischen Patentamts am  
 Diese Angaben dienen nur zur Orientierung und erfolgen ohne Gewähr.

21-09-2001

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument		Datum der Veröffentlichung		Mitglied(er) der Patentfamilie		Datum der Veröffentlichung
EP 0230956	A	05-08-1987	DE	3602688 A1		06-08-1987
			AT	109354 T		15-08-1994
			AU	6810087 A		06-08-1987
			CA	1307373 A1		08-09-1992
			CA	1340217 A1		15-12-1998
			DE	3750298 D1		08-09-1994
			EP	0230674 A2		05-08-1987
			EP	0230956 A2		05-08-1987
			ES	2058066 T3		01-11-1994
			JP	2110923 C		21-11-1996
			JP	8019159 B		28-02-1996
			JP	62209099 A		14-09-1987
EP 0249167	A	16-12-1987	DE	3619565 A1		17-12-1987
			AT	95067 T		15-10-1993
			AU	598268 B2		21-06-1990
			AU	7408787 A		17-12-1987
			CA	1340737 A1		14-09-1999
			DE	3787569 D1		04-11-1993
			DK	296387 A		12-12-1987
			EP	0249167 A2		16-12-1987
			ES	2059323 T3		16-11-1994
			FI	872578 A ,B,		12-12-1987
			JP	5025862 B		14-04-1993
			JP	62292731 A		19-12-1987
			PT	85052 A ,B		01-07-1987
			US	5248767 A		28-09-1993
EP 0297294	A	04-01-1989	DE	3718889 A1		22-12-1988
			AT	73671 T		15-04-1992
			AU	617322 B2		28-11-1991
			AU	1732288 A		08-12-1988
			CA	1338698 A1		12-11-1996
			DE	3869230 D1		23-04-1992
			DK	304288 A		06-12-1988
			EP	0297294 A1		04-01-1989
			ES	2037136 T3		16-06-1993
			FI	882605 A ,B,		06-12-1988
			GR	3004869 T3		28-04-1993
			JP	2690944 B2		17-12-1997
			JP	63317083 A		26-12-1988
			KR	9705837 B1		21-04-1997
			PT	87658 A ,B		01-07-1988
			US	5068106 A		26-11-1991
US 4623717	A	18-11-1986	AT	30296 T		15-11-1987

Für nähere Einzelheiten zu diesem Anhang : siehe Amtsblatt des Europäischen Patentamts, Nr. 12/82

**ANHANG ZUM EUROPÄISCHEN RECHERCHENBERICHT  
ÜBER DIE EUROPÄISCHE PATENTANMELDUNG NR.**

EP 01 10 9549

In diesem Anhang sind die Mitglieder der Patentfamilien der im obengenannten europäischen Recherchenbericht angeführten Patentdokumente angegeben.  
 Die Angaben über die Familienmitglieder entsprechen dem Stand der Datei des Europäischen Patentamts am  
 Diese Angaben dienen nur zur Orientierung und erfolgen ohne Gewähr.

21-09-2001

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
US 4623717 A		CA 1187410 A1 DE 3176491 D1 DK 98681 A ,B, EP 0035204 A2 ES 500121 D0 ES 8201827 A1 JP 1980554 C JP 6011702 B JP 56139422 A MX 6967 E US 4440679 A	21-05-1985 26-11-1987 06-09-1981 09-09-1981 01-01-1982 01-04-1982 17-10-1995 16-02-1994 30-10-1981 09-01-1987 03-04-1984
DE 3718889 A 22-12-1988		DE 3718889 A1 AT 73671 T AU 617322 B2 AU 1732288 A CA 1338698 A1 DE 3869230 D1 DK 304288 A EP 0297294 A1 ES 2037136 T3 FI 882605 A ,B, GR 3004869 T3 JP 2690944 B2 JP 63317083 A KR 9705837 B1 PT 87658 A ,B US 5068106 A	22-12-1988 15-04-1992 28-11-1991 08-12-1988 12-11-1996 23-04-1992 06-12-1988 04-01-1989 16-06-1993 06-12-1988 28-04-1993 17-12-1997 26-12-1988 21-04-1997 01-07-1988 26-11-1991
US 4806524 A 21-02-1989		JP 61097229 A CA 1258629 A1 EP 0178665 A2	15-05-1986 22-08-1989 23-04-1986
EP 0383234 A 22-08-1990		DE 3904354 A1 AT 114669 T AU 638969 B2 AU 4933990 A CA 2009946 A1 DE 59007785 D1 DK 383234 T3 EP 0383234 A2 ES 2066020 T3 IE 65920 L JP 2264799 A JP 2930243 B2 KR 149999 B1	16-08-1990 15-12-1994 15-07-1993 30-08-1990 14-08-1990 12-01-1995 01-05-1995 22-08-1990 01-03-1995 14-08-1990 29-10-1990 03-08-1999 17-08-1998

Für nähere Einzelheiten zu diesem Anhang : siehe Amtsblatt des Europäischen Patentamts, Nr.12/82

**ANHANG ZUM EUROPÄISCHEN RECHERCHENBERICHT  
ÜBER DIE EUROPÄISCHE PATENTANMELDUNG NR.**

EP 01 10 9549

In diesem Anhang sind die Mitglieder der Patentfamilien der im obengenannten europäischen Recherchenbericht angeführten Patentdokumente angegeben.

Die Angaben über die Familienmitglieder entsprechen dem Stand der Datei des Europäischen Patentamts am  
Diese Angaben dienen nur zur Unterrichtung und erfolgen ohne Gewähr.

21-09-2001

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument		Datum der Veröffentlichung		Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
EP 0383234	A		PT US	93128 A ,B 6239261 B1	31-08-1990 29-05-2001
US 4960757	A	02-10-1990	DE AT AU AU CA DE EP ES ES GR IL JP JP JP NO NZ PT ZA	3230849 A1 47525 T 587365 B2 1810983 A 1203166 A1 3380764 D1 0103196 A2 524992 D0 8506450 A1 78934 A1 69515 A 1980556 C 6094419 B 59053428 A 832977 A ,B, 205306 A 77213 A ,B 8306093 A	23-02-1984 15-11-1989 17-08-1989 23-02-1984 15-04-1986 30-11-1989 21-03-1984 01-08-1985 16-11-1985 02-10-1984 30-01-1987 17-10-1995 24-11-1994 28-03-1984 20-02-1984 20-02-1987 01-09-1983 25-04-1984

